

# Media Medika Muda

Copyright©2016 by Medical Faculty of Diponegoro University

Volume 1, Nomor 2

ISSN 1858-3318

Mei – Agustus 2016

## ARTIKEL ASLI



### KORELASI ANTARA KADAR VITAMIN A DAN IL-12 SERUM PADA ANAK DENGAN MALARIA ASIMPTOMATIK DI DAERAH ENDEMIS MALARIA

Nakhwa Arkhaesi

#### THE CORRELATION BETWEEN VITAMIN A AND IL-12 SERUM ON ASYMPTOMATIC CHILDREN IN ENDEMIC MALARIA AREA

#### ABSTRACT

**Background:** Vitamin A has central role in immune system. Several studies suggest an interaction between vitamin A and malaria. IL-12 is a cytokine that have potency to induce cellular immune defense, and also inhibit and cytotoxic to intracellular parasites such as malaria. The objectives of this study was to investigate correlation between vitamin A and IL-12 on asymptomatic children in endemic malaria area

**Methods:** A cross sectional study was conducted on 2 villages with highest malaria HCl in Purworejo District, Central Java, Indonesia. Seventy seven children age 6-14 years were randomly selected as study subjects. Children with fever ( $>37.2^{\circ}\text{C}$ ) or symptomatic malaria were excluded. Malaria diagnosis was confirmed by Rapid diagnostic test (RDT), thick and thin peripheral blood smears. Vitamin A and IL-12 were measured from vein blood samples by ELISA methods.

**Results:** From 77 blood samples, RDT yield 5 children were negative, 70 children were infected by *P. falciparum* and 2 children by *P. vivax*. however by blood smear examination only 2 samples were positive for *P. vivax*. The level of vitamin A was  $28.97 \pm 8.009 \mu\text{g/L}$ . and serum IL-12 was  $3.36 \pm 3.327 \text{ pg/mL}$  Spearman's rho correlation analysis shows significant correlation between vitamin A and IL-12 ( $r=0.32; p=0.005$ ).

**Conclusion:** Blood vitamin A is correlated to serum IL-12 on asymptomatic malaria children.

**Keywords:** Asymptomatic, malaria, vitamin A, IL-12

#### ABSTRAK

**Latar belakang:** Vitamin A memiliki peran sentral dalam kekebalan tubuh. Beberapa penelitian menunjukkan adanya interaksi antara kadar vitamin A dengan malaria. IL-12 merupakan sitokin yang dapat menginduksi respon imun. IL-12 dapat menghambat dan efek sitotoksik terhadap parasit intrasel termasuk malaria. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara kadar Vitamin A dan IL-12 serum pada anak dengan malaria asimtomatik di daerah endemis malaria.

**Metode:** Penelitian belah lintang dilakukan di 2 desa dengan HCl malaria tertinggi di Kabupaten Purworejo, Jawa Tengah. Subyek penelitian adalah 77 anak usia 6-14 tahun yang dipilih secara acak. Anak dengan demam ( $>37,2^{\circ}\text{C}$ ) dan ada gejala malaria tidak digunakan sebagai subyek penelitian. Diagnosis malaria dilakukan dengan Rapid diagnostic test (RDT), preparat hapus darah tepi tipis dan tebal. Kadar vitamin A dan IL-12 diukur dari sampel darah vena dengan metode ELISA.

**Hasil:** Pemeriksaan RDT menunjukkan 5 anak negative, 70 anak terinfeksi *P. falciparum* dan 2 anak dengan *P. vivax*. Kadar vitamin A serum  $28,97 \pm 8,009 \mu\text{g/L}$  dan kadar IL-12 serum  $3,36 \pm 3,327 \text{ pg/mL}$ . Uji korelasi Spearman menunjukkan korelasi positif yang bermakna antara kadar vitamin dan IL-12 serum ( $r=0,32; p=0,005$ ).

**Simpulan:** Kadar vitamin A berkorelasi dengan IL-12 serum pada anak dengan malaria asimtomatik di daerah endemis malaria

**Kata kunci:** Malaria asimtomatik, vitamin A, IL-12.

<sup>1)</sup> Bagian Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran UNDIP/RSUP Dr. Kariadi Semarang

## PENDAHULUAN

Penyakit Malaria adalah penyakit yang disebabkan oleh sporozoa plasmodium dan ditularkan oleh spesies Anopheles. Penyakit malaria sampai saat ini masih menjadi permasalahan global. *World Health Organization* (WHO) melaporkan pada tahun 2014 dijumpai transmisi malaria pada 97 negara.<sup>1</sup> Pada tahun 2013 dilaporkan sebanyak 198 juta orang menderita malaria dan sebanyak 584 ribu orang dilaporkan meninggal karena malaria. Kematian anak karena malaria dilaporkan menurun 40% sejak tahun 2000, namun dari angka kematian global akibat malaria sebanyak 78% adalah kelompok anak. Hal ini berarti kematian dijumpai 1200 anak meninggal setiap harinya akibat malaria.<sup>2</sup>

Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) Kementerian Kesehatan RI tahun 2013 menunjukkan *point prevalence* malaria adalah 1,3%, meningkat 2 kali lipat dibandingkan tahun 2010.<sup>3</sup> Berdasarkan pemeriksaan *Rapid diagnostic test* (RDT), malaria positif dijumpai pada 1,9% anak usia 1-9 tahun dan 1,1% anak usia 10-14 tahun.

Di Jawa Tengah sampai saat ini penyakit malaria masih menjadi permasalahan kesehatan. Pada tahun 2012 masih ditemukan 31 desa dengan *High Case Incidence* (HCI) yang tersebar di 5 Kabupaten yaitu Purworejo, Kebumen, Purbalingga, Banyumas dan Jepara.<sup>4</sup> Laporan Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Tengah tahun 2011 kasus malaria terbanyak dijumpai di Kabupaten Purworejo yaitu sebanyak 1.001 penderita dengan *Annual Parasitic Index* (API) 1,34‰. Pada tahun 2013 di Kabupaten Purworejo dijumpai 712 kasus malaria dengan API 0,98‰ yang lebih tinggi dibanding API tahun 2012 yaitu 0,57‰.<sup>4</sup>

Infeksi malaria tidak selalu memperlihatkan gejala atau tanda yang jelas. Infeksi malaria pada anak seringkali tidak menunjukkan gejala adanya infeksi atau parasitemia asimtomatik. Anak dengan malaria asimtomatik sering dijumpai pada daerah endemis malaria.<sup>5</sup>

Malaria sangat umum ditemukan pada wilayah endemic. Penelitian-penelitian sebelumnya melaporkan adanya hubungan antara malaria dengan berbagai indikator kekurangan gizi. Vitamin A dilaporkan dapat mencegah infeksi malaria pada penderita dengan kelemahan sistem kekebalan tubuh.<sup>6</sup>

Hasil penelitian sebelumnya menyebutkan suplementasi vitamin A suplemen merupakan strategi yang baik untuk anak-anak yang tinggal di daerah endemis malaria. Suplementasi vitamin A dilaporkan mengurangi sepertiga kejadian malaria tanpa komplikasi.<sup>7</sup> Namun demikian sampai saat ini belum ada kajian yang menjelaskan mekanisme perlindungan terhadap infeksi malaria oleh vitamin A. Imunitas terhadap malaria sangat kompleks karena melibatkan hampir seluruh komponen sistem imun baik imunitas alamiah dan spesifik, imunitas humoral maupun seluler. Parasit malaria yang masuk ke dalam darah akan segera dihadapi oleh respons imun alamiah dan selanjutnya respons imun spesifik.<sup>8,9</sup>

Makrofag merupakan sel efektor berperan dalam perlindungan terhadap malaria. Makrofag berperan melalui fagositosis langsung terhadap plasmodium, mensekresi berbagai macam sitokin guna mengaktifkan sel-sel imun lainnya. *Interleukin-12* (IL-12) yang disekresi makrofag akan mengaktifasi sel *natural killer* (sel NK) untuk menghasilkan *Interferon-γ* (INF-γ) dan sel penyaji antigen kepada limfosit T. Sitokin termasuk IL-12 berperan aktif menghambat pertumbuhan parasit (sitostatik), maupun sitotoksik dan berfungsi mengaktifkan sistem imunitas lainnya.

*Interleukin-12* adalah mediator utama dari sistem imun alamiah terhadap mikroba intraseluler, juga merupakan *key inducer* dari imunitas seluler yang merupakan respon imun didapat terhadap mikroba tersebut. *Interleukin-12* pada awalnya merupakan aktivator dari sel NK, tetapi lebih utama menstimulasi produksi INF-γ yang dihasilkan oleh sel NK dan sel T.<sup>9,10</sup> Penelitian sebelumnya oleh Malaguarnera melaporkan kadar IL-12 berkorelasi negatif dengan derajat berat malaria. Kadar IL-12 serum yang rendah lebih banyak dijumpai pada anak dengan infeksi malaria derajat berat.<sup>11</sup>

Vitamin A memiliki peran sentral dalam sistem kekebalan tubuh. Vitamin A berpengaruh dalam sekresi beberapa sitokin utama termasuk TNF-α, IL-1β, IL-8 dan IL-12.<sup>10</sup>

Penelitian oleh Shankar *et al* menunjukkan suplementasi vitamin A menyebabkan penurunan episode demam *P. falciparum* secara signifikan.<sup>12</sup>

Penelitian tentang korelasi kadar vitamin A dengan IL-12 serum sampai saat ini belum pernah dilaporkan. Penelitian ini diperlukan untuk menjelaskan mekanisme perlindungan oleh

vitamin A terhadap infeksi malaria pada anak dengan malaria asimtomatik. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi masukan dalam pencegahan maupun terapi malaria di di daerah endemis.

## METODE

Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik dengan rancangan belah lintang yang dilakukan di Desa Kalitapas dan Bleber Kecamatan Bener Kabupaten Purworejo Jawa Tengah. Subyek penelitian adalah 77 anak yang dipilih secara acak dari data siswa sekolah dasar di wilayah Desa Kalitapas dan desa Bleber. Kriteria inklusi adalah anak usia 6–14 tahun, berdomisili di wilayah penelitian  $\geq 1$  tahun, uhu tubuh normal ( $36,1\text{--}37,2^\circ\text{C}$ ; axilla), orang tua/wali anak setuju anaknya ikut serta pada penelitian. Kriteria eksklusi adalah anak dengan gizi buruk berdasarkan klinis dan atau antropometri, menderita malaria simtomatis, dan atau infeksi lain seperti infeksi saluran pernafasan akut (ISPA), otitis media akuta/OMA, dan diare dan diketahui menderita atau dalam pengobatan penyakit kronis seperti: tuberkulosis, penyakit ginjal.

Pengambilan sampel darah diambil secara intravena sebanyak 2 ml darah, 1 mL untuk pemeriksaan malaria (darah tebal/tipis dan ICT Pf/PV/Entebe®) dan 1 mL untuk pemeriksaan IL-12. Pengambilan sampel dilakukan antara pukul 9–12 pagi,

Preparat darah tebal dan tipis untuk pemeriksaan malaria (jenis parasit, kepadatan parasit). Pemeriksaan *slide* darah malaria dilakukan oleh tenaga mikroskopik malaria di Balai Pengembangan dan Penelitian Vektor Malaria, Salatiga, Jawa Tengah. Pemeriksaan malaria juga dilakukan dengan cara TDC (ICT Pf/Pv/Entebe®).

Pemeriksaan kadar Vitamin A (*MyBioSource*, USA) dan IL-12 (*R&D System*, UK) dilakukan dengan merode ELISA di Laboratorium GAKI Semarang.

Hubungan antara kadar vitamin A dan IL-12 dianalisis dengan uji korelasi *Spearman*.

## HASIL

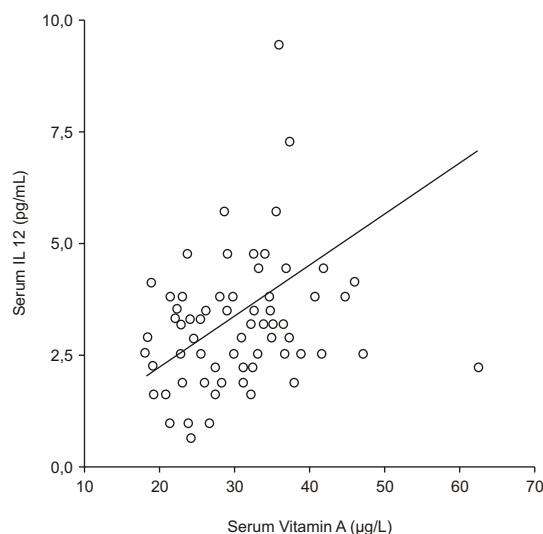
### Karakteristik subyek penelitian

Tabel 1. Karakteristik subyek penelitian, kadar vitamin A dan IL-12 serum ( $n=77$ )

Karakteristik	Rerata $\pm$ SB (min–maks)	n (%)
Jenis kelamin		
- Laki-laki	–	47 (61,0%)
- Perempuan	–	30 (39,0%)
Umur (tahun)	$9,6 \pm 2,03$ (6–14)	–
Berat badan (kg)	$24,3 \pm 6,04$ (14,8–42,5)	–
Tinggi badan (cm)	$126,4 \pm 11,96$ (102–140)	–
Indeks Massa Tubuh	$14,9 \pm 1,82$ (12,1–22,70)	–
Vitamin A ( $\mu\text{g/dL}$ )	$28,97 \pm 8,009$ (18–62,8)	–
IL-12 (pg/mL)	$3,36 \pm 3,327$ (0,32–29,13)	–

Pada tabel 1 tampak jenis kelamin subyek penelitian sebagian besar adalah laki-laki (61,0%). Rerata umur adalah  $9,6 \pm 2,03$  tahun. Rerata berat badan adalah  $24,3 \pm 6,04$  kg dan tinggi badan adalah  $126,4 \pm 11,96$  cm. Rerata Indeks Massa Tubuh (IMT) adalah  $14,9 \pm 1,82$ . Berdasarkan kriteria IMT sebagian besar termasuk kategori *normoweight* (74,0%), *underweight* 23,4% dan yang paling sedikit adalah *overweight* 2,6%.

Rerata kadar vitamin A serum adalah  $28,97 \pm 8,009$  (g/dL). Rerata kadar IL-12 serum adalah  $3,36 \pm 3,327$  pg/mL.



Gambar 1. Diagram sebar korelasi antara kadar vitamin A serum dengan kadar IL-12 serum ( $n=77$ ).

### Pemeriksaan darah malaria

Dari 77 sampel darah hasil pemeriksaan RDT menunjukkan seluruhnya adalah negatif malaria. Berbeda dengan pemeriksaan RDT pemeriksaan darah hapus menunjukkan 75 subyek (97,4%) adalah negatif dan hanya 2 subyek (2,6%) yang hasilnya positif malaria. Jenis parasit malaria yang dijumpai kedua-duanya adalah *Plasmodium falciparum*.

### Hubungan antara kadar vitamin A dan IL-12 serum

Hasil analisis dengan uji korelasi *Spearman* dijumpai adanya korelasi yang bermakna antara kadar vitamin A serum dan kadar IL-12 serum ( $r=0,32$ ;  $p=0,005$ ). Gambar 1 menampilkan korelasi antara kadar vitamin A dengan IL-12.

## PEMBAHASAN

Penelitian tentang korelasi antara vitamin A dengan IL-12 belum pernah dilaporkan sebelumnya. Pada penelitian ini dijumpai adanya korelasi yang bermakna antara kadar vitamin A serum dengan IL-12 serum. Hasil penelitian sebelumnya menyebutkan vitamin dapat meningkatkan produksi sitokin yang bersifat anti inflamasi seperti IL-10.

IL-12 berperan penting pada imunitas seluler dan humoral sebagai respon imunitas terhadap malaria. Penelitian Boutlis pada hewan coba menunjukkan pemberian IL-12 menurunkan angka kematian malaria dengan menurunkan parasitemia dan memacu pengeluaran INF- $\gamma$  dan sebagian peranan nitrit oksid (NO). IL-12 berperan pada respon awal melawan *Plasmodium*. IL-12 berperan pada memicu sekresi INF- $\gamma$ , yang akan merangsang respon dari Th1 pada tahap awal infeksi.<sup>13</sup>

Penelitian sebelumnya melaporkan kejadian parasitemia tinggi selama infeksi akut berhubungan dengan penurunan kadar IL-12p70, TNF- $\alpha$  dan nitrit oksid. Pada tahap pemulihan dari infeksi, IL-12 dibutuhkan untuk menghasilkan antibodi immunoglobulin G2a (Ig2a). Hasil tersebut menunjukkan bahwa aktivitas immunoregulator dari IL-12 adalah untuk menghasilkan respon antibodi melawan *Plasmodium*. Pada anak yang non imun terhadap *P. falciparum* menunjukkan kadar IL-12 dan INF- $\gamma$  serum yang rendah dan kapasitasnya menurun untuk menghasilkan IL-12

dan INF- $\gamma$  setelah stimulasi *in vitro*. *Interleukin-12* akan menginduksi kekebalan terhadap serangan sporozoit pada binatang pengerat dan primata non manusia, dengan menstimulasi produksi INF- $\gamma$ .<sup>14</sup> Parasit akan memacu pengeluaran IL-12 dari monosit/makrofag, sel B dan sel-sel lain yang penting untuk memulai kaskade inflamasi. *Interleukin-12* menginduksi pertahanan pada hewan coba pada penelitian malaria yang berhubungan dengan kemampuan IL-12 untuk mengubah sel T CD4+ menjadi Th-1 yang akan menghasilkan INF- $\gamma$ . *Interferon  $\gamma$*  yang dihasilkan akan menstimulasi monosit untuk mengeluarkan TNF- $\alpha$  yang akan memacu pengeluaran antiparasit seperti nitrit oksid. Kadar IL-12 yang rendah pada malaria berat menunjukkan bahwa IL-12 penting untuk sebagai imunoprotektor terhadap malaria pada manusia.<sup>15</sup>

Vitamin A mempunyai peranan penting di dalam pemeliharaan sel epitel. Sel epitel merupakan salah satu jaringan tubuh yang terlibat di dalam fungsi imunitas non-spesifik. Vitamin A juga berperan pada imunitas seluler. Dalam bekerja imunitas seluler melibatkan sel darah putih baik mononuklear maupun polinuklear, serta sel NK. Sel-sel tersebut berperan *antigen presenting cell* (APC) dan selanjutnya memacu produksi sitokin dan pada akhirnya meningkatkan produksi sel B dan antibodi.<sup>10</sup>

Adanya korelasi antara kadar vitamin A dengan IL-12 diduga disebabkan peran dari vitamin A untuk sistem imun seluler yang selanjutnya meningkatkan kadar IL-12. Walaupun demikian molekuler peningkatan kadar IL-12 karena pemberian vitamin A masih belum dapat dijelaskan dengan penelitian ini. Penelitian lanjutan diperlukan untuk menjelaskan mekanisme tersebut. Kelemahan penelitian ini adalah hanya sedikitnya subyek dengan malaria positif dan tidak dibandingkan dengan anak dengan gejala klinis malaria positif. Penelitian lanjutan diperlukan untuk menjelaskan mekanisme molekuler hubungan antara vitamin A dengan kadar IL-12 pada infeksi malaria.

## SIMPULAN

Kadar vitamin A serum berkorelasi positif dengan kadar IL-12 serum.

## DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization. Fact sheet on the World Malaria Report 2014. Available from [http://www.who.int/malaria/media/world\\_malaria\\_report\\_2014/en/](http://www.who.int/malaria/media/world_malaria_report_2014/en/). Last accessed February 2, 2015.
2. Unicef. Malaria kills 1,200 children a day: UNICEF. Available from [http://www.unicef.org/media/media\\_81674.html](http://www.unicef.org/media/media_81674.html). Last accessed February 2, 2015.
3. Kementerian Kesehatan RI. Situasi malaria di Indonesia. Jakarta: Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI, 2014.
4. Dinas Kesehatan Propinsi Jawa Tengah. Buku profil kesehatan provinsi Jawa Tengah tahun 2013. Semarang: Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Tengah, 2014.
5. Njama-Meya D, Kanya MR, Dorsey G. Asymptomatic parasitaemia as a risk factor for symptomatic malaria in a cohort of Ugandan children. *Trop Med Int Health* 2004;9:862-8.
6. Olofin IO, Spiegelman D, Aboud S, Duggan C, Danaei G, Fawzi WW. Supplementation with multivitamins and vitamin A and incidence of malaria among HIV-infected Tanzanian women. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2014;67 Suppl 4:S173-8.
7. Sanjoaquin MA, Molyneux ME. Malaria and vitamin A deficiency in African children: a vicious circle? *Malar J* 2009;8:134.
8. Nugroho A, Harijanto PN, Datau EA. Imunologi pada malaria. In: Harijanto PN, editor. *Malaria Epidemiologi, Patogenesis, Manifestasi Klinik dan Penanganan*. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran, 2000.
9. Abbas AK, Lichtman AHH, Pillai S. *Cellular and Molecular Immunology*. Philadelphia: Elsevier Health Sciences, 2014.
10. Villamor E, Fawzi WW. Effects of vitamin a supplementation on immune responses and correlation with clinical outcomes. *Clin Microbiol Rev* 2005;18:446-64.
11. Malaguarnera L, Imbesi RM, Pignatelli S, Simpore J, Malaguarnera M, Musumeci S. Increased levels of interleukin-12 in *Plasmodium falciparum* malaria: correlation with the severity of disease. *Parasite Immunol* 2002;24:387-9.
12. Shankar AH, Genton B, Semba RD, et al. Effect of vitamin A supplementation on morbidity due to *Plasmodium falciparum* in young children in Papua New Guinea: a randomised trial. *Lancet* 1999;354:203-9.
13. Boutlis CS, Lagog M, Chaisavaneeyakorn S, et al. Plasma interleukin-12 in malaria-tolerant papua new guineans: inverse correlation with *Plasmodium falciparum* parasitemia and peripheral blood mononuclear cell nitric oxide synthase activity. *Infect Immun* 2003;71:6354-7.
14. Su Z, Fortin A, Gros P, Stevenson MM. Opsonin-independent phagocytosis: an effector mechanism against acute blood-stage *Plasmodium chabaudi* AS infection. *J Infect Dis* 2002;186:1321-9.
15. Angulo I, Fresno M. Cytokines in the pathogenesis of and protection against malaria. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002;9:1145-52.

